

**Autoradiographische Untersuchungen
zum Regenerationsmechanismus der Belegzellen des
Rattenmagens nach Stimulierung mit Pentagastrin**

Michael Buchhorn

1978



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Pathologischen Institut der Universität München

Direktor: Prof. Dr. med. M. Eder

Autoradiographische Untersuchungen
zum Regenerationsmechanismus der Belegzellen des
Rattenmagens nach Stimulierung mit Pentagastrin

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Michael Buchhorn
aus
Traunstein

1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. B. Wiebecke
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. M. Eder
Dekan:	Prof. Dr. W. Spann
Tag der mündlichen Prüfung:	25. 4. 1978



Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung und Problemstellung	1
2. Material und Methoden	7
2.1. Material	7
2.2. Versuchsanordnung	7
2.3. Anfertigung der histologischen und autoradiographischen Präparate	12
2.4. Auswertung der autoradiographischen Präparate	14
2.4.1. Prinzip der Methode	14
2.4.2. Bestimmung des Markierungsindex der Belegzellen	15
2.4.3. Bestimmung der Silberkornzahl der Belegzellen	17
3. Ergebnisse	18
3.1. Färberische Darstellung der Magen-epithelzellen	18
3.2. Autoradiographische Befunde	19
3.2.1. Verteilung der markierten Belegzellen in der Drüse	19
3.2.2. Markierungsindex der Belegzellen	21
3.2.2.1. Nach Pentagastrinstimulierung	21
3.2.2.2. Ohne Pentagastrinstimulierung	21
3.2.3. Silberkornzählungen	22
3.3. Statistische Auswertung	35
4. Diskussion	38
5. Zusammenfassung	47
6. Literaturverzeichnis	48

1. Einleitung und Problemstellung

Die Erforschung des Regenerationsmodus der Epithelzellen der Magenschleimhaut war seit der Jahrhundertwende das Ziel zahlreicher Beobachtungen und Experimente.

Die ersten, zum Teil heute noch grundlegenden Arbeiten über die Magenschleimhautregeneration erschienen von BIZZOZERO (1888, 1893), BENŞLEY (1898, 1932), HARVEY (1907), HARMS (1910) und PLENK (1932). Da diesen Forschern aber nur das statische morphologische Substrat zur Verfügung stand, mußten Methoden gefunden werden, die über Ort und Ablauf der Regeneration genaueren Aufschluß gaben.

So konnten neue Erkenntnisse über die dynamischen Vorgänge am Oberflächenepithel der Fundusschleimhaut des Magens mit der Colchicin - Methode, bei der die Mitosen in der Metaphase blockiert werden, von TEIR, SCHAUMAN und SUNDELL (1952), STEVENS und LEBLOND (1953), LEBLOND und WALKER (1956) und BERTALANFFY (1960) gefunden werden. Die erste Chance, genauere Einblicke in die Wachstumsvorgänge der spezifischen Fundusdrüsenzellen zu bekommen, war jedoch erst mit der Anwendung der Autoradiographie gegeben. Diese Methode, bei welcher die Zellen in der DNS - Synthesephase durch Einbau radioaktiven Thymidins in den Zellkern markiert und während ihres ganzen Lebenszyklus verfolgt werden können, machten sich v. a. MESSIER und LEBLOND (1960), CREAMER (1961), HUNT und HUNT (1961, 1962), TOWNSEND (1961), RAGINS (1968) und WILLEMS (1971, 1972, 1975) zunutze. LAWN (1960), CORPRON (1966), RUBIN (1968) und MATSUYAMA (1970) ergänzten schließlich die gefundenen Ergebnisse durch elektronenmikroskopische Beobachtungen.

Der Mechanismus der Zellerneuerung des Oberflächenepithels des gesamten Magen - Darm - Traktes entspricht dem eines typischen Wechselgewebes. Nach den übereinstimmenden Ergebnissen der Untersucher findet die Zellneubildung ausschließlich in bestimmten Regenerationszonen statt, die am Darm in den Krypten, am Magenfundus im mittleren Schleimhautdrittel, im Isthmus und Hals lokalisiert sind. Bei der Ratte unterteilt sich die Regenerationszone der Fundusschleimhaut in zwei Abschnitte mit unterschiedlich hoher Regenerationsrate (STEVENS und LEBLOND 1953). Der aktivere Abschnitt liegt im Isthmus der Foveolae und sorgt für den Ersatz der Oberflächen. Das weniger aktive Gebiet befindet sich im Hals (Nebenstück) und betrifft offenbar im wesentlichen den Ersatz der Nebenzellen (MESSIER 1960). Der Mitoseindex der Nebenzellen ist gegenüber dem der Oberflächenzellen mit einem Verhältnis von 1 : 3 bis 1 : 4 deutlich niedriger (STEVENS und LEBLOND 1953, LEBLOND und WALKER 1956). Die Zellerneuerung der Oberflächenzellen erfolgt nach dem Prinzip der bivalenten Zellteilung (OEHLERT und BÜCHNER 1961). Während Tochterzellen in den Regenerationszonen an Ort und Stelle bleiben und weiterhin zur Teilung befähigt sind, wandern andere entlang der Foveolae zur Oberfläche. Während dieser Wanderung differenzieren sie sich unter Verlust ihrer Teilungsfähigkeit und werden schließlich an der Schleimhautoberfläche abgestoßen. Zellneubildung, Zellwanderung und Zellverlust stehen somit in einem Gleichgewicht (steady state).

Wesentlich weniger ist über das regenerationsfähige Verhalten der spezifischen Funduszellen bekannt. Dies sind zum einen die Salzsäure sezernierenden Belegzellen. Sie sind in Isthmus, Hals (Nebenstück) und Grund (Hauptstück) der Drüsen zu finden. Zum anderen

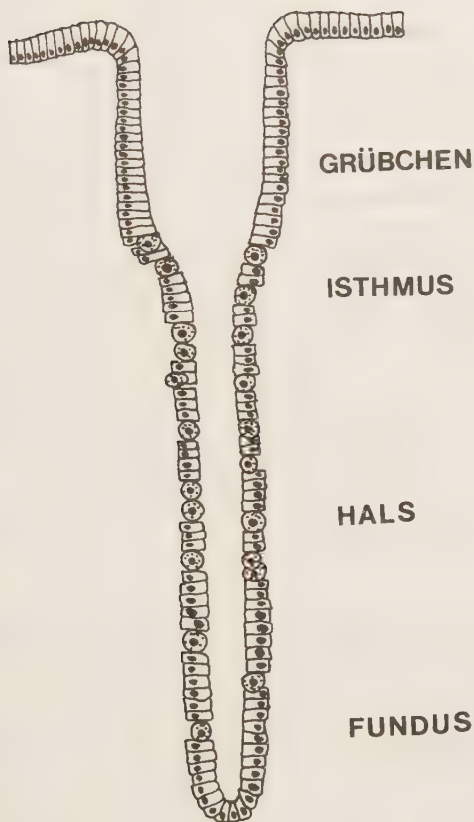


Abb. 1 Schematische Darstellung einer Fundusdrüse.
 Runde und granulierte Zellen = Belegzellen
 Grübchen: Oberfläche bis oberste Belegzelle
 Isthmus: Oberste Belegzelle bis oberste Nebenzelle
 Hals: Oberste bis unterste Nebenzelle
 Grund (Fundus): Unterste Drüsenzelle bis unterste Belegzelle
 (Aus DITLMANN 1977)

sind es die Pepsinogen sezernierenden Hauptzellen, die nur im Grund der Drüsen liegen (Abb. 1). Über die Erneuerung letzterer werden von den Untersuchern zum Teil unterschiedliche Aussagen gemacht. Nach HUNT (1958), MESSIER (1960), TOWNSEND (1961), HUNT und HUNT (1961, 1962), LAWSON (1970) und MATSUYAMA (1970) sollen sie von undifferenzierten Zellen oder von Nebenzellen abstammen. Diese Annahme stützt sich zum Teil auf Untersuchungen, die u. a. während der Ulkusheilung oder nach Röntgenbestrahlung gemacht wurden und somit unphysiologischen Verhältnissen entsprachen. LEBLOND und WALKER (1956), HUNT und HUNT (1961, 1962), LIAVAG (1968), WEGENER (1971) und WILLEMS (1972) wiesen bei den Hauptzellen eine leichte mitotische Aktivität nach. WILLEMS (1975) nahm schließlich an, daß bei erwachsenen Mäusen unter normalen Bedingungen die Hauptzellen ein sich selbst regenerierendes System darstellen, sich also normalerweise nicht aus anderen Zellen differenzieren.

Ähnlich unterschiedlich sind die bisherigen Aussagen über die Belegzellregeneration. Während HARMS (1910) bei Mäusen Belegzellmitosen sah, und MYRHE (1960) und HUNT und HUNT (1962) meinten, daß die Belegzellen teilungsfähig seien, zeigen die meisten Untersuchungen jedoch, daß sich die Belegzellen unter normalen Umständen nicht teilen (TEIR 1952, STEVENS und LEBLOND 1953, CREAMER 1961, LIPKIN 1963, MAC DONALD 1964, MESSIER und LEBLOND 1966, RAGINS 1968 und WILLEMS 1972). Die Belegzellen sollen sich diesen Autoren zufolge durch Differenzierung aus Vorläuferzellen bilden, sei es aus undifferenzierten Zellen im Isthmus (CORPRON 1966, RUBIN 1968, MATSUYAMA 1970 und WILLEMS 1972), sei es aus Nebenzellen (BENSLEY 1932, HUNT und HUNT 1961 und RAGINS 1968).

Die vorliegende Untersuchung wurde in Fortsetzung einer Reihe von früheren Beobachtungen und Versuchen in den Pathologischen Instituten der Universitäten Köln und München (Dir. Prof. Dr. H. Eder), die sich alle mit der Belegzellregeneration beschäftigten, durchgeführt. Hierbei konnten KLEIN und JIRMANN (1969) zeigen, daß es nach einer Pentagastrinstimulierung innerhalb einer Woche zu einer 18 %igen Belegzellhyperplasie kommt. Die Möglichkeit amitotischer Zellteilungen als Ursache der raschen Belegzellvermehrung wurde durch die Untersuchungen von DITLMANN (1977) praktisch ausgeschlossen. Tetraploide Belegzellkerne, die als Voraussetzung für Amitosen hätten vorliegen müssen, wurden nicht gefunden. Daß mitotische Teilungen von Belegzellen unter besonderen Umständen vorkommen können, wurde von GOKEL (1976) gezeigt: Nach Magenresektionen bei der Ratte fanden sich zahlreiche Belegzellmitosen nahe dem Schnitt-
rand.

Die Aufgabe dieses Versuches war es nun, den Ablauf der Belegzellregeneration nach Stimulierung mit Pentagastrin durch zeitlich gestaffelte Untersuchungen möglichst genau zu verfolgen. Dabei sollte in Anbetracht der erwähnten früheren Ergebnisse festgestellt werden, ob sich die Belegzellen unter dieser submaximalen Pentagastrinstimulierung

- aus sich selbst regenerieren, oder
- sich aus undifferenzierten Vorläuferzellen differenzieren.

Die Stimulierung mit Pentagastrin erfolgte deshalb, weil die normale Belegzellregeneration außerordentlich langsam vor sich geht, Pentagastrin aber eine wesentliche Steigerung der Regenerationsaktivität bewirkt (KLEIN 1968). Pentagastrin ist ein synthetisches, dem Gastrin analoges Pentapeptid, das vermutlich eine

direkte trophische Wirkung auf Gewebe des oberen Gastrointestinaltraktes hat und darüberhinaus keine wesentlichen Nebenwirkungen zeigt (CREAN 1969, HÜBNER 1969, 1972, JOHNSON 1969, STANLEY 1972 und MILLER 1973).

In dem zugrundeliegenden Versuch wurden Ratten mit Pentagastrin bis zu submaximalen Dosen stimuliert. Nach Mehrfachmarkierungen mit tritiiertem Thymidin ließ man die Tiere unterschiedlich lang überleben, um Aufschlüsse über die eventuelle Differenzierung der Belegzellen aus Vorläuferzellen und / oder ihre mögliche Wanderung vom Isthmus bzw. Hals in den Drüsengrund zu erhalten. Zu diesem Zweck wurde der Markierungsindex der Belegzellen getrennt in drei Zonen der Magendrüse (Isthmus, Hals, Grund) bestimmt. Dies erfolgte in zeitlicher Staffelung, wobei die einzelnen Versuchsgruppen einer verschieden starken Pentagastrinstimulation unterzogen wurden. Umfassende Silberkornzählungen sollten Aufschluß über Unterschiede der Markierungsdichte der Belegzellen im Isthmus und Drüsengrund und damit einen indirekten Hinweis auf eine mögliche Wanderung geben.

Obwohl bekannt ist, daß sich der Regenerationsmechanismus der Belegzellen an Mäusen wegen des schnelleren Turnovers ihrer Zellen besser beobachten läßt, wurden dennoch Ratten als Versuchstiere gewählt, um vergleichbare Ergebnisse mit den oben erwähnten Arbeiten, die ebenfalls an Ratten durchgeführt wurden, zu erhalten.

2. Material und Methoden

2.1. Material

Versuchstiere: 30 erwachsene männliche WISTAR - Ratten aus eigener Zucht mit einem Körpergewicht von 250 Gramm. Fütterung mit Standardpressfutter (Altromin) und Wasser ad libitum.

Pentagastrin (I. C. I. 50 123): Kristallisiert. Mit steriler physiologischer Kochsalzlösung wurde jeweils vor Verwendung eine frische Pentagastrinlösung angesetzt.

^3H - Thymidin (^3H TdR): Radiochemical Center Amersham, spez. Aktivität 5 Curie / mMol.

Kodak - Stripping Film AR 10.

Fotoemulsion K 2 (Ilford, England).

2.2. Versuchsanordnung

Da 1 Woche nach submaximaler Pentagastrinstimulierung mit einer 18 %igen Belegzellzunahme zu rechnen ist (KLEIN und JIRMAN, 1969), war es ein Versuchsziel, den Beginn und den Ablauf der Belegzellregeneration zu erfassen.

Zu diesem Zweck wurden die Versuchstiere gruppenweise gestaffelt im Abstand von 6 Stunden einer Pentagastrindauer - bzw. - intervallstimulierung von längstens 7 Tagen Dauer unterzogen (Einzeldosis 150 Mikrogramm Pentagastrin / kg Körpergewicht s. c., nach KLEIN und JIRMAN, 1969). Eine Kontrollgruppe bekam anstelle von Pentagastrin nur sterile Kochsalzlösung.

Um möglichst viele Belegzellen bzw. Vorläuferzellen in der Regenerationsphase zu erfassen, wurde jedes Tier 2 Tage vor Absetzen der Pentagastrinstimulation einer achtmaligen Intervallmarkierung mit ^3H - Thymidin im Abstand von 6 Stunden unterzogen. Die Einzeldosis betrug jeweils 0,5 Mikro - Curie / Gramm Ratte. Die Untersuchung der Tiere erfolgte in unterschiedlichem zeitlichen Abstand nach Beendigung der Pentagastrinstimulierung (siehe nachstehende Aufstellung und Abb.2).

Gruppe 1

6 Tiere

Stimulierung mit Pentagastrin s. c. 8 x in Abständen von je 6 Stunden. Intervallmarkierung mit $^3\text{HTdR}$ beginnend mit der 2. Pentagastringabe.

R 1 u. R 2

Tötung der Tiere 40 Min. nach der letzten $^3\text{HTdR}$ - Injektion.

R 18 u. R 19

Tötung der Tiere 7 Tage nach der letzten $^3\text{HTdR}$ - Injektion.

R 26 u. R 27

Wegen technischer Mängel nicht verwertbar.

Gruppe 2

2 Tiere

Stimulierung mit Pentagastrin s. c. 12 x in Abständen von je 6 Stunden. Intervallmarkierung mit $^3\text{HTdR}$ beginnend mit der

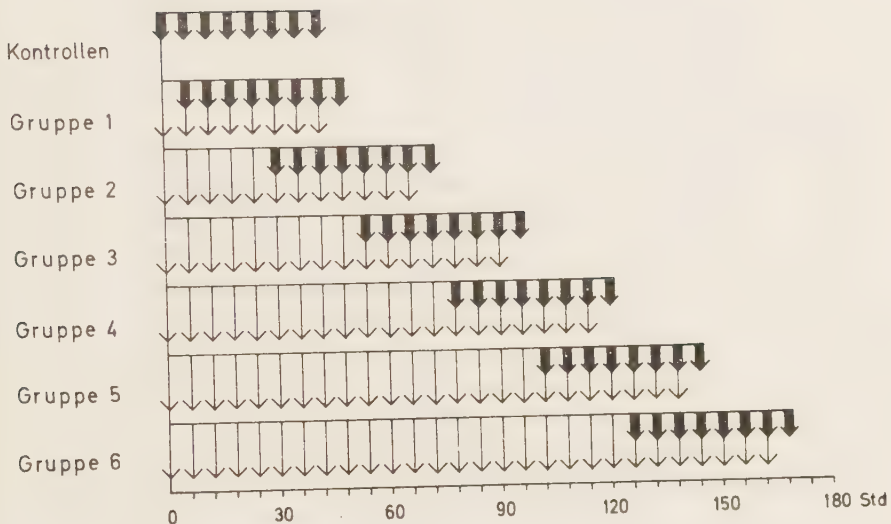


Abb. 2 Schematische Darstellung der Versuchsanordnung.
 Dünne Pfeile: Pentagastrinintervallstimulierung
 (Jeder Pfeil = 150 Mikrogramm/kg Ratte).
 Dicke Pfeile: 3HTdR - Intervallmarkierung
 (Jeder Pfeil = 0,5 Mikro - Curie/g Ratte).

6. Pentagastringabe.

R 3 u. R 4 Tötung der Tiere 40 Min.
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

Gruppe 3

6 Tiere
Stimulierung mit Penta-
gastrin s. c. 16 x in Ab-
ständen von je 6 Stunden.
Intervallmarkierung mit
3HTdR beginnend mit der
10. Pentagastringabe.

R 5 u. R 6 Tötung der Tiere 40. Min.
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

R 20 u. R 21 Tötung der Tiere 7 Tage
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

R 28 u. R 29 Tötung der Tiere 28 Tage
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

Gruppe 4

2 Tiere
Stimulierung mit Penta-
gastrin s. c. 20 x in Ab-
ständen von je 6 Stunden.
Intervallmarkierung mit
3HTdR beginnend mit der
14. Pentagastringabe.

R 7 u. R 8 Tötung der Tiere 40 Min.
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

Gruppe 5

2 Tiere

Stimulierung mit Penta-
gastrin s. c. 24 x in Ab-
ständen von je 6 Stunden.
Intervallmarkierung mit
3HTdR beginnend mit der
18. Pentagastringabe.

R 9 u. R 10

Tötung der Tiere 40 Min.
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

R 22 u. R 23

Tötung der Tiere 7 Tage
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

R 30 u. R 31

Tötung der Tiere 28 Tage
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

Gruppe 6

2 Tiere

Stimulierung mit Penta-
gastrin s. c. 28 x in Ab-
ständen von je 6 Stunden.
Intervallmarkierung mit
3HTdR beginnend mit der
22. Pentagastringabe.

R 11 u. R 12

Tötung der Tiere 40 Min.
nach der letzten 3HTdR -
Injektion.

Gruppe 7 (Kontrollen):

6 Tiere

Keine Pentagastrinstimu-
lierung.
Intervallmarkierung mit

	3HTdR 8 x in Abständen von je 6 Stunden.
R 16 u. R 17	Tötung der Tiere 40 Min. nach der letzten 3HTdR - Injektion.
R 24 u. R 25	Tötung der Tiere 7 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion.
R 32 u. R 33	Tötung der Tiere 28 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion.

2.3. Anfertigung der histologischen und autoradiogra- phischen Präparate

Unmittelbar nach Tötung der Tiere in Narkoseäther wurde der Magen an der großen Kurvatur aufgeschnitten, mit Stecknadeln auf Pappe aufgespannt und in 5 %igem neutralgepufferten Formalin fixiert, dem 100 mg/l nichtaktives Thymidin zugesetzt worden war. Damit bei allen Versuchstieren und Kontrollen die Untersuchung der Korpus - Fundusschleimhaut an entsprechenden Stellen erfolgen konnte, wurden die Mägen so in Paraffin eingebettet, daß jeweils Querschnitte zwischen der großen und kleinen Kurvatur entstanden, und zwar in Höhe der Plattenepithelzunge des Vormagens (Abb. 3). Von allen Präparaten wurden 5 Mikrometer dicke Schnitte angefertigt und nach HE und Zimmermann gefärbt (MARKS und DRYSDALE 1957).

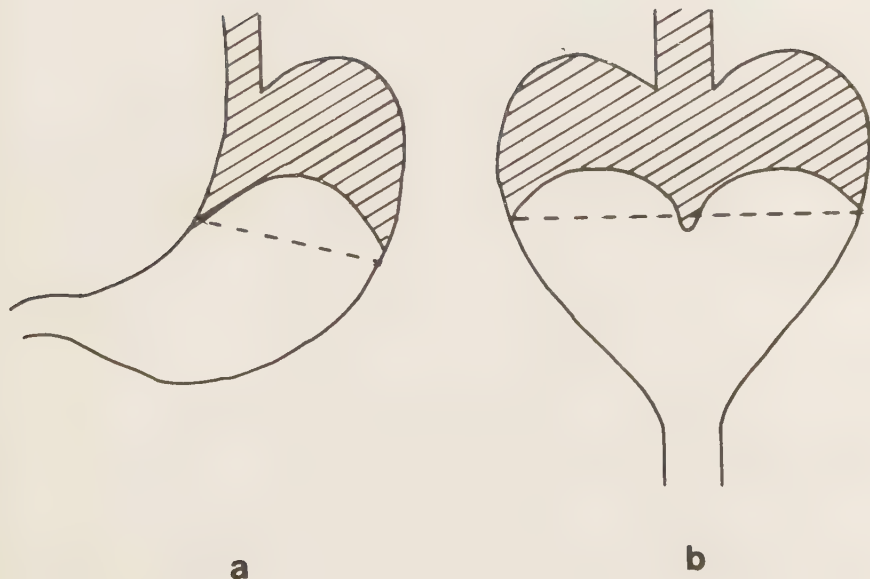


Abb. 3 Schematische Darstellung des Rattenmagens
a: geschlossen
b: an der großen Kurvatur eröffnet
Das schraffierte Feld stellt den mit Platten-
epithel ausgekleideten Vormagen dar.

Die für die Bestimmung des Markierungsindex vorgesehenen Präparate wurden mit Fotoemulsion K 2 überschichtet. Bei den für die quantitativen Silberkornzählungen bestimmten Präparaten erfolgte eine Überschichtung mit Kodak Stripping Film AR 10. Die Präparate wurden sodann in der Dunkelkammer exponiert, bis eine ausreichende Markierung erkennbar war (8 - 11 Tage). Nach Entwicklung erfolgte die Färbung der Präparate nach Zimmermann durch die Filmschicht hindurch. Nach Trocknung bei Zimmertemperatur und anschließender völliger Entwässerung in der Alkoholreihe wurden die Präparate mit Cedax und Deckgläsern eingedeckt.

2.4. Auswertung der autoradiographischen Präparate

2.4.1. Prinzip der Methode

Die Autoradiographie mit ^3H - Thymidin ist zur Zeit die geeignetste Methode, die Kinetik des Zellumsatzes im Gewebeschnitt zu bestimmen. Da Thymidin ein selektiver DNS - Vorläufer ist, gelingt es durch Applikation seines tritiummarkierten Analogon (^3H - Thymidin), Zellkerne in der 6 - 8 stündigen DNS - Synthesephase (QUASTLER 1959, PILGRIM 1965, WEGENER 1971) zu markieren. Von Vorteil ist dabei, daß Thymidin wegen seines raschen Metabolismus nur etwa 40 Minuten nach Applikation im Organismus verfügbar ist (SCHULTZE 1968), so daß die Zahl der markierten Zellen ein Maß für den Zellumsatz innerhalb dieses kurzen Zeitraumes ergibt.

Tritium ist ein Beta - Strahler mit einer Reichweite von wenigen Millimetern. Histologische Präparate, die mit einer Fotoemulsion oder einer Filmschicht überzogen

wurden, werden über den Zellkernen, welche ^3H - Thymidin eingebaut haben, punktuell geschwärzt (Abb. 4). Die Zahl der Silberkörner über einem Zellkern steht quantitativ in einem Verhältnis zur Intensität der DNS-Synthese (SCHULTZE 1968), so daß zum Beispiel tetraploide Zellkerne im Prinzip eine doppelt so hohe Körnchenzahl wie diploide aufweisen.

Aus dem Verhältnis der markierten DNS synthetisierenden Zellen zur Gesamtzahl (= Markierungsindex) gewinnt man ein Maß für die Zellneubildung. Die autoradiographische Methode gestattet außerdem, einmal markierte Zellen auf ihrem weiteren Weg zu verfolgen, so daß Einblicke in die Differenzierungsrichtung, eventuelle Wanderungen und die Lebensdauer einer Zelle möglich sind.

2.4.2. Bestimmung des Markierungsindex der Belegzellen

Es wurden hierbei in einem einfachen Blindversuch selektiv Belegzellen erfaßt. Die Bestimmung des Markierungsindex der Belegzellen wurde jeweils auf drei verschiedene Schleimhautzonen bezogen durchgeführt. Diese Zonen waren Isthmus, Hals und Grund (Abb. 1).

- Der Isthmus der Fundusschleimhaut erstreckt sich von der obersten Nebenzelle bis zur obersten Belegzelle einer Drüse,
- der Hals der Fundusschleimhaut von der obersten bis zur untersten Nebenzelle,
- der Grund reicht von der untersten Drüsenzelle bis zur untersten Nebenzelle.

Die Belegzellen galten nur als markiert, wenn sie mindestens 5 Silberkörner aufwiesen. Mikroskopiert wurde bei 400facher Vergrößerung mit Hilfe eines quadratischen Rasters im Okular. Dieser Raster hatte

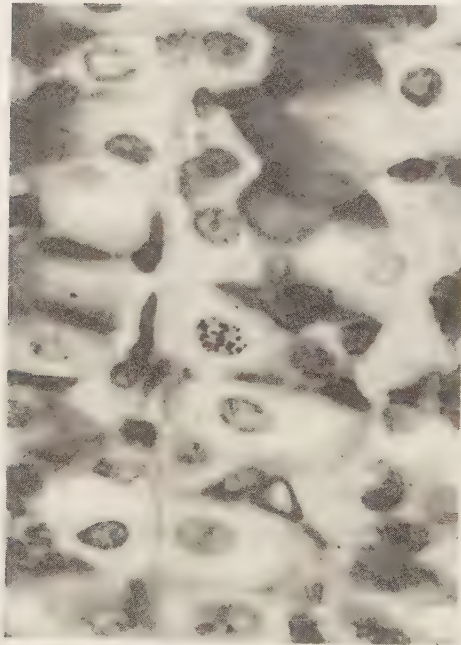


Abb. 4: Markierte Belegzelle im Fundus der Magendrüse

eine Kantenlänge von 1 cm. Es wurde in jedem Gewebeschnitt ein Feld von der Größe zweier Raster ausgezählt, und zwar in einer quer zur Längsachse des Magens verlaufenden Linie zwischen kleiner und großer Krümmung, wobei die Plattenepithelzunge des Vormagens als Orientierung diente (Abb. 3). Da bekannt ist, daß an der Grenze des Zylinderepithels zum Plattenepithel des Vormagens ein höherer Zellumsatz als im

übrigen Magen herrscht, wurde der auszuzählende Schleimhautabschnitt immer 2 Rasterfelder von dieser Grenze aufgesucht. Somit wurden jeweils vergleichbare Stellen ausgewertet. pro Magen wurden so im Durchschnitt 1000 Belegzellen gezählt.

2.4.3. Bestimmung der Silberkornzahl der Belegzellen

Zur Auswertung wurden alle zur Verfügung stehenden Gewebeschnitte herangezogen, die bei 1000facher Vergrößerung in Ölimmersion über ihre gesamte Länge nach markierten Belegzellen abgesucht wurden. Wieder galten nur die Belegzellen als markiert, die mindestens 5 Silberkörner aufwiesen. Diese Silberkornzählungen über den Belegzellen wurden im Isthmus und Drüsengrund getrennt durchgeführt. Im Isthmus konnten durchschnittlich 280, im Hauptstück durchschnittlich 50 markierte Belegzellen ausgewertet werden.

3. Ergebnisse

3.1. Färberische Darstellung der Magenepithelzellen

In der Färbung nach Zimmermann (PAS und Nachfärbung mit Orange G und Hämatoxylin, MARKS und DRYSDALE 1957) lassen sich 4 Zelltypen der Fundusschleimhaut gut unterscheiden. Neben den Oberflächen - bzw. Foveolarzellen sind dies die Nebenzellen, die Hauptzellen und die Belegzellen. Eine zuverlässige Differenzierung zwischen undifferenzierten Vorläuferzellen und den Feyrter'schen Hellen Zellen ist mit dieser Methode nicht möglich.

- Die Oberflächenzellen begrenzen das Magenlumen und die Foveolae und reichen bis in den Isthmus der Drüsen. Sie haben ein schwach basophiles Zytoplasma. Ihre Kerne mit prominenten Nukleoli sind oval und haben eine lockere Chromatinstruktur. Charakteristisch sind die apikalen dunkelroten Schleimgranula. Die Oberflächenepithelzellen nehmen an Größe und in der Menge ihres Schleimgehaltes vom Isthmus bis zur Oberfläche hin zu.
- Die Nebenzellen befinden sich im Hals (Nebenstück) der Fundusschleimhaut. Ihre Kerne sind meist dreieckig verformt. Das mit hellrotem Schleim beladene Zytoplasma wölbt sich bisweilen ins Drüsenlumen vor.
- Die Hauptzellen sind nur im Grund lokalisiert. Sie werden an ihrer starken Basophilie des Zytoplasmas, zahlreichen helleren Zymogengranula und ihrer gegenüber Belegzellen geringeren Größe erkannt.
- Im Gegensatz zu den beschriebenen Zellen sind die Belegzellen in allen 3 Zonen der Fundusschleimhaut anzutreffen. Sie besitzen große, eosinophile Zellkörper. Ihr Kern ist ebenfalls groß, oval, schwach

basophil und hat einen gut erkennbaren Nukleolus.

Undifferenzierte Zellen befinden sich als Vorläufer von anderen Zellen in großer Zahl hauptsächlich in der Indifferenzzone des Isthmus, ob auch an anderen Stellen ist fraglich. Es gilt als sicher, daß die Oberflächenzellen aus dieser Indifferenzzone hervorgehen. Während die undifferenzierten Zellen im Isthmus wie die Oberflächenzellen große, ovale und basal liegende Kerne mit prominenten Nukleoli haben, fehlt ihnen die zytoplasmatische Differenzierung.

Aber auch im Hals und Grund kann man Zellen finden, die den eben beschriebenen sehr ähnlich sind. Ob es sich bei diesen Zellen auch um Vorläuferzellen oder um die oben erwähnten Feyrter'schen Hellen Zellen handelt, kann man nur elektronenmikroskopisch feststellen. RAGINS (1968) spricht deshalb bei diesen nicht exakt zu identifizierenden Zellen in Hals und Grund einfach von "anderen Zellen".

3.2. Autoradiographische Befunde

3.2.1. Verteilung der markierten Belegzellen in der Drüse

Bei den Tieren, die 40 Min. nach der letzten 3HTdR - Injektion getötet wurden, findet sich eine sehr starke Markierung im Isthmus, eine weniger starke im Hals der Magendrösen. Diese betrifft vor allem die Oberflächenepithel - und undifferenzierten Zellen, in geringerem Maße auch die Nebenzellen. Ihr Schicksal zu verfolgen, war jedoch nicht das Ziel des Versuchs. Markierte Be-

legzellen finden sich nach 40 Min. nur in sehr geringem Ausmaß (Markierungsindex kleiner als 1 %, Tab. 2 und 3), wobei 60 % der markierten Belegzellen im Isthmus, 40 % im Hals liegen. Im Drüsengrund gibt es nur sehr wenige markierte Zellen, von denen einige Hauptzellen sind, viele jedoch nicht zu identifizieren sind und als " andere Zellen " (RAGINS 1968) eingestuft werden. Eindeutig markierte Belegzellen können 40 Min. nach der letzten 3HTdR - Injektion im Drüsengrund nicht gefunden werden (Tab. 1).

Dies ist 7 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion anders. Die Zahl der markierten Belegzellen steigt jetzt deutlich an (Markierungsindex bis 6,7 %, Tab. 2 und 3), die Verteilung der markierten Belegzellen in den einzelnen Zonen ändert sich mit 54 % zugunsten des Halses, gegenüber 44 % im Isthmus. Jetzt sind auch etwa 2 % der markierten Belegzellen im Grund der Drüsen anzutreffen (Tab. 1).

28 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion ist ein weiterer Anstieg des Markierungsindex zu verzeichnen (bis 8,74 %, Tab. 2 und 3). Im Isthmus und Hals sind mit jeweils 42 % gleich viele markierte Belegzellen. Auffallend ist der deutliche Anstieg der markierten Belegzellen im Grund auf etwa 15 % (Tab. 1).

Bei allen Versuchsgruppen wurde gleichzeitig nach Belegzellmitosen gesucht. Unter den etwa 27000 gezählten Belegzellen konnte jedoch keine einzige Mitose gefunden werden.

3.2.2. Markierungsindex der Belegzellen

3.2.2.1. Nach Pentagastrinstimulierung

Obwohl bei allen Tieren eine 8malige Intervallmarkierung mit ^3H - Thymidin durchgeführt wurde, ist der Markierungsindex bei den nach 40 Min. getöteten Tieren in den Gruppen sehr gering, er bleibt auch bei den 24 x mit Pentagastrin stimulierten Tieren unter 1 % (Tab. 2 und 3). Nach einer Überlebenszeit von 7 Tagen steigt die Zahl der markierten Belegzellen deutlich an, nach 16facher Stimulierung auf durchschnittlich 4,81 %, nach 24facher Stimulierung auf durchschnittlich 5,22 %. Einen weiteren, aber nurmehr kleinen Anstieg um etwas mehr als 2 % findet man dann bei den Tieren, die nach 28 Tagen getötet worden sind. Der Markierungsindex beträgt hier nach 16facher Pentagastrinstimulierung durchschnittlich 6,89 %, nach 24facher Stimulierung durchschnittlich 7,03 % (Tab. 2 und 3). Angemerkt werden muß, daß bei einzelnen Tieren mit gleicher Stimulierung im Markierungsindex Unterschiede bis zu 3 % auftraten. Die Tatsache, daß eine deutliche Zahl von markierten Belegzellen erst erscheint, wenn man die Tiere nach der letzten Thymidininjektion einige Tage überleben läßt, spricht dafür, daß sie sich aus anderen Zellen differenzieren.

3.2.2.2. Ohne Pentagastrinstimulierung (Kontrollen)

Die stimulierende Wirkung des Pentagastrin auf die Belegzellvermehrung zeigt der Vergleich zwischen Versuchstieren und Kontrollen (Tab. 2 und 3, Abb. 5). Der Unterschied ist bereits 40 Min. nach der letzten $^3\text{HTdR}$ -

Injektion deutlich. Nach 7 Tagen ist bei den Kontrollen der Anstieg des Markierungsindex 0,5 %, gegenüber 4,4 % bei den 24fach mit Pentagastrin stimulierten Tieren. Nach 28 Tagen weisen die 24fach stimulierten Tiere einen mittleren Markierungsindex von 7,03 % auf, die Kontrollen dagegen nur einen von 2,72 %. Zwischen 7 Tagen und 4 Wochen ist der Indexanstieg bei Versuchstieren und Kontrollen in etwa gleich. Die größte Zuwachsrate an markierten Belegzellen zeigen die Versuchstiere somit in der ersten Phase nach der Pentagastrinstimulierung. Die Verringerung des Indexanstiegs zwischen 7 und 28 Tagen dürfte darauf zurückzuführen sein, daß in diesem Zeitraum die stimulierende Wirkung des Pentagastrin bereits vollständig abgeklungen ist, und daher die Neubildungsrate der Belegzellen stark abnimmt.

3.2.3. Silberkornzählungen

Da markierte Belegzellen bei den nach 40 Min. getöteten Tieren im Isthmus nur sehr spärlich, im Hauptstück gar nicht vorhanden waren (Tab. 1), wurden nur die Präparate der nach 7 und 28 Tagen getöteten Tiere zur Körnchenzählung herangezogen.

Im Isthmus bilden die markierten Belegzellen mit durchschnittlich 46 % sowohl nach 7, als auch nach 28 Tagen einen Gipfel bei 7 - 11 Körnchen, während im Mittel 16 % der markierten Belegzellen 5 - 6 und 22 % 12 - 16 Körnchen aufweisen. Die Zahl der Belegzellen mit höheren Körnchenzahlen fällt demgegenüber steil ab. So haben z. B. nur 1,05 % der markierten Belegzellen 27 - 31 Silberkörnchen (Abb. 6 - 11).

Im Hauptstück haben im Mittel 26 % der markierten Belegzellen 7 - 11 Körnchen. Hier liegt der Häufigkeitsgipfel mit 27 % der Belegzellen bei einer Silberkörnchenzahl von 12 - 16, während nur 3 % der Belegzellen 5 - 6 Körnchen haben. Es fällt schon in der mikroskopischen Übersicht auf, daß im Grund die Belegzellen in der Regel stärker markiert sind und somit höhere Körnchenzahlen besitzen als im Isthmus. Beispielsweise haben im Grund 12 % der markierten Belegzellen 22 - 26 Körnchen, während diese Anzahl im Isthmus nur 3 % der Belegzellen erreichen (Abb. 6 - 11).

Die Körnchenzählungen ergeben somit, daß im Isthmus gegenüber dem Drüsengrund eine zeitabhängige Verminderung der Körnchendichte eintritt, was für eine häufigere Teilung der markierten Vorläuferzellen in dem Zeitraum von 3 Wochen spricht. Analog hierzu läßt sich auch eine Verminderung der mittleren Körnchenzahl im Isthmus selbst belegen. (Nach 7 Tagen findet sich bei den markierten Belegzellen eine mittlere Körnchenzahl von 11,6, gegenüber 10,4 nach 28 Tagen).

Die Häufigkeitsverteilung der Belegzellen bezogen auf die Körnchenzahl im Isthmus zeigt nach 28 Tagen zwar keine Verschiebung des Gipfels nach links, wohl aber eine Erhöhung. Der Gipfel liegt nach 28 Tagen stets zwischen 45 und 50 % gegenüber einer Gipfelhöhe zwischen 40 und 45 % nach 7 Tagen. Dies bedeutet, daß sich die Zahl geringer markierter Belegzellen in dem Zeitraum von 3 Wochen erhöht hat. Gleichzeitig ist auch eine Verschmälerung der Verteilungskurve mit Verminderung der hochmarkierten Belegzellen erkennbar.

Im Hauptstück liegt der Gipfel der Häufigkeitsverteilung mit einer Ausnahme (Abb. 7) bei 7 - 11 Körnchen pro Zelle, doch ist der Gipfel insgesamt ebenso wie die

Basis wesentlich breiter. Aus diesem insgesamt breiteren Kurvenprofil und dem niedrigeren Gipfel ergeben sich in dem Beobachtungszeitraum keine grundsätzlichen Änderungen abgesehen von einigen Unregelmäßigkeiten. In allen dargestellten Untersuchungsgruppen zeigt sich eine Rechtsverschiebung der Verteilungskurve im Drüsengrund gegenüber dem Isthmus, wobei zu den späteren Untersuchungszeitpunkten diese Rechtsverschiebung noch deutlicher ausgeprägt ist. Diese Unterschiede sind statistisch hochsignifikant (siehe unter 3.3. Statistische Auswertung) und belegen somit eindeutig eine durchschnittlich höhere Körnchendichte über den Belegzellkernen des Drüsengrundes gegenüber dem Isthmus, gleichzeitig aber auch einen zeitlich bedingten "Verdünnungseffekt" im Isthmus. Diese Befunde sprechen dafür, daß sich die Vorläuferzellen der Belegzellen im Drüsengrund nicht so oft geteilt haben können wie im Isthmus.

Tabelle 1

Prozentuale Verteilung der markierten Belegzellen im Durchschnitt aller Versuchsgruppen auf 3 Zonen der Fundusschleimhaut zu verschiedenen Zeiten nach der letzten Thymidininjektion. Da bei den Kontrollen zum Teil fast keine markierten Belegzellen gefunden wurden, sind diese hier nicht mit berücksichtigt.

	40 Min.	7 Tage	28 Tage
Isthmus	59,8 %	44,34 %	42,69 %
Hals	40,22 %	53,84 %	42,69 %
Grund	0 %	1,82 %	14,62 %

Tabelle 2

Mittlere Markierungsindices der Belegzellen aller Zonen von jeweils 2 Tieren zu verschiedenen Zeiten nach der letzten 3HTdR - Injektion und nach unterschiedlich häufigen Pentagastrinstimulierungen (PG) im Vergleich zu den Kontrollen (s. auch Abb. 5).

PG	40 Min.	7 Tage	28 Tage
8 x	0,85 %	1,60 %	-
16 x	0,61 %	4,81 %	6,89 %
24 x	0,83 %	5,22 %	7,03 %
Kontrollen	0,36 %	0,86 %	2,72 %

Tabelle 3

Markierungsindices (MI) aller Versuchstiere gestaffelt nach Pentagastrinstimulierungen (PG) und unterschiedlichen Untersuchungszeiten nach der letzten 3HTdR - Injektion (Zeit) im Vergleich zu den Kontrollen (Kontr.) mit Angabe der gezählten unmarkierten (unmark. BZ) und markierten Belegzellen (mark. BZ).

Ratte	Zeit	PG	unmark. BZ	mark. BZ	BZ MI (%)
R 1	40 Min	8 x	808	7	0,85
R 3	" "	12 x	1350	7	0,52
R 4	" "	12 x	2288	12	0,52
R 5	" "	16 x	968	7	0,72
R 6	" "	16 x	1389	7	0,50
R 7	" "	20 x	1289	10	0,77
R 8	" "	20 x	1114	10	0,89
R 9	" "	24 x	1000	9	0,89
R 10	" "	24 x	1522	12	0,76
R 12	" "	28 x	1328	9	0,67
R 16	" "	Kontr.	1522	5	0,33
R 17	" "	Kontr.	1263	5	0,39
R 18	7 Tage	8 x	796	13	1,60
R 20	" "	16 x	475	30	5,94
R 21	" "	16 x	575	22	3,68
R 22	" "	24 x	871	63	6,74
R 23	" "	24 x	491	19	3,70
R 24	" "	Kontr.	411	4	0,96
R 25	" "	Kontr.	530	4	0,75
R 28	28 Tage	16 x	865	46	5,05
R 29	" "	16 x	522	50	8,74
R 30	" "	24 x	833	55	6,19
R 31	" "	24 x	281	24	7,87
R 32	" "	Kontr.	207	4	1,90
R 33	" "	Kontr.	682	25	3,53

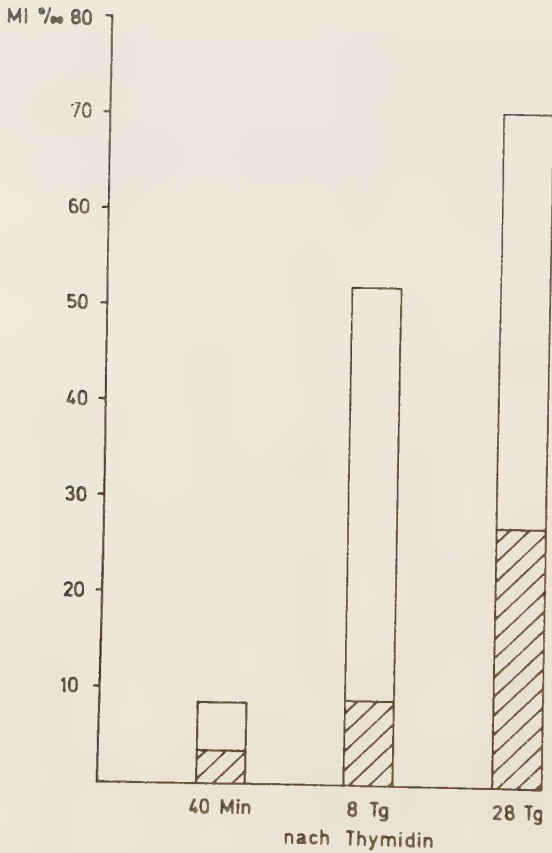


Abb. 5 Mittlerer Markierungsindex der Belegzellen von je 2 Tieren zu verschiedenen Zeiten nach der letzten $^3\text{HTdR}$ - Injektion und nach 24facher Stimulierung mit 150 Mikrogramm Pentagastrin/kg Ratte (unshraffiert) und von Kontrollen (schraffiert).

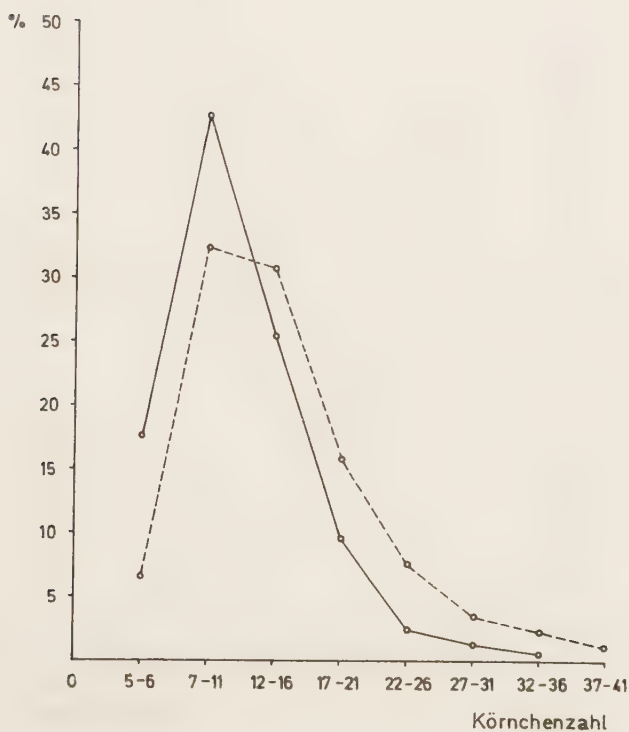


Abb. 6 Prozentuale Häufigkeitsverteilung der markierten Belegzellen bezogen auf die Zahl der Silberkörnchen (in Klassen) bei 2 Ratten 7 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion und 8 maliger Penta-

—— Isthmus - - - - Grund

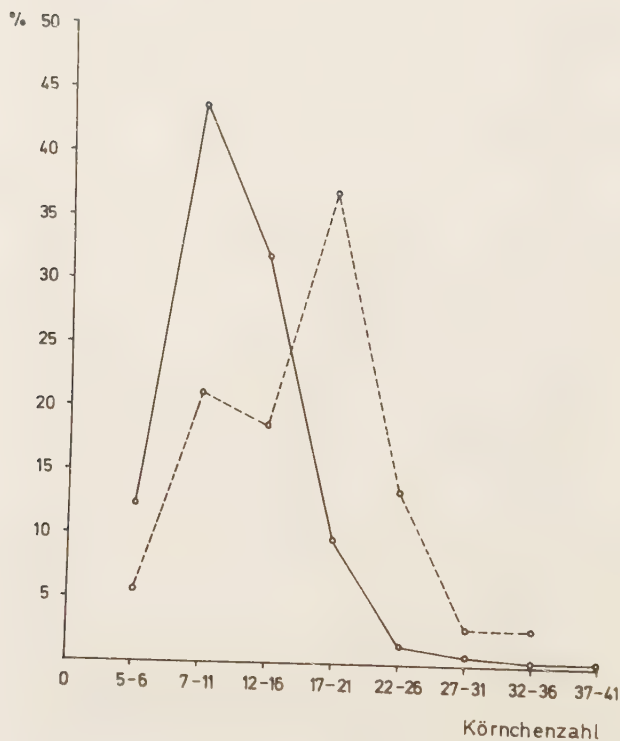


Abb. 7 Prozentuale Häufigkeitsverteilung der markierten Belegzellen bezogen auf die Zahl der Silberkörnchen (in Klassen) bei 1 Ratte 7 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion und 16 maliger Penta-gastrinstimulierung.

———— Isthmus - - - - Grund

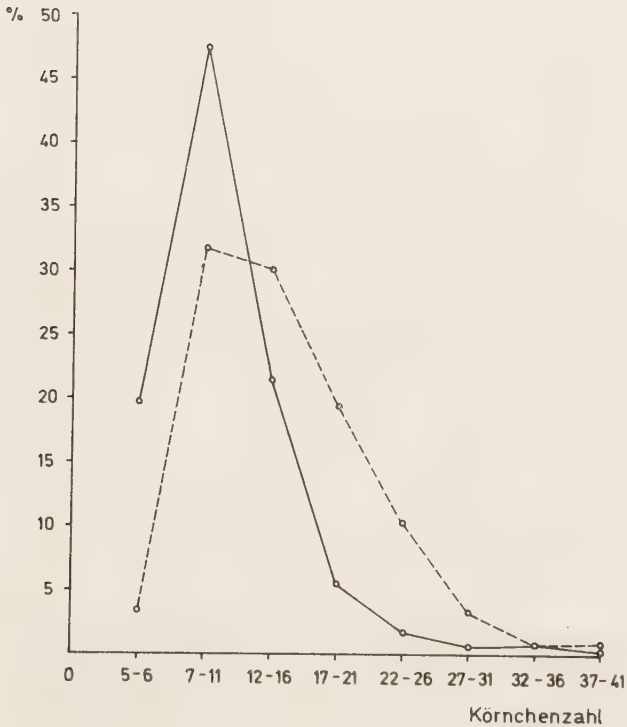


Abb. 8 Prozentuale Häufigkeitsverteilung der markierten Belegzellen bezogen auf die Zahl der Silberkörnchen (in Klassen) bei 2 Ratten 7 Tage nach der letzten $^3\text{HTdR}$ - Injektion und 24 maliger Penta-gastrinstimulierung.

———— Isthmus - - - - Grund

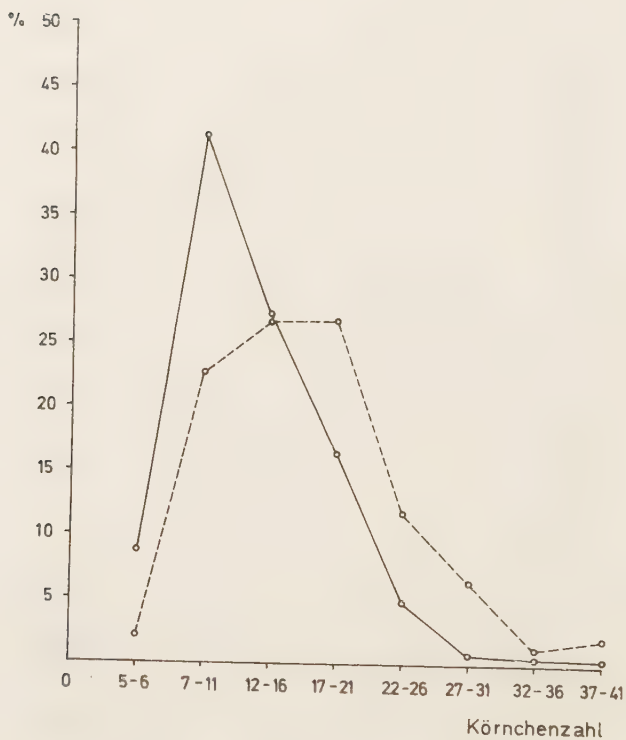


Abb. 9 Prozentuale Häufigkeitsverteilung der markierten Belegzellen bezogen auf die Zahl der Silberkörnchen (in Klassen) bei 2 Ratten 28 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion und 8 maliger Penta-gastrinstimulierung.

———— Isthmus - - - - Grund

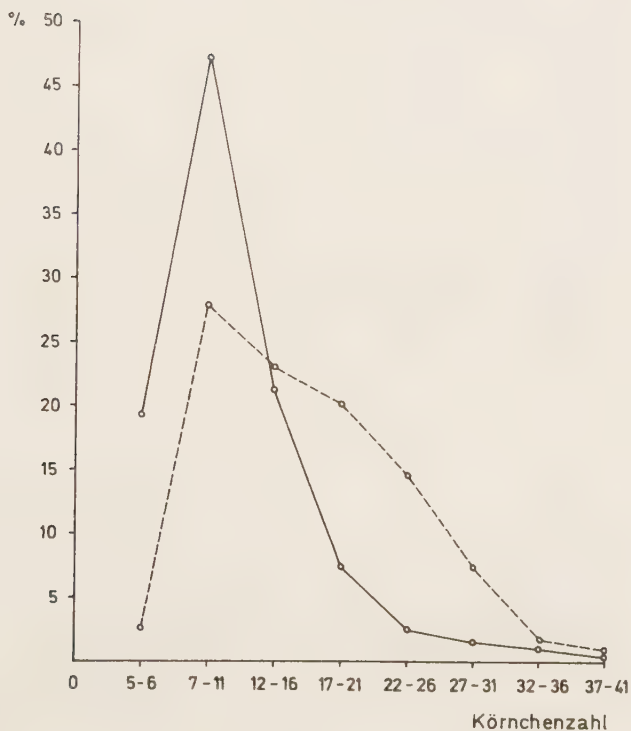


Abb. 10 Prozentuale Häufigkeitsverteilung der markierten Belegzellen bezogen auf die Zahl der Silberkörnchen (in Klassen) bei 2 Ratten 28 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion und 16 maliger Pentagastrinstimulierung.

———— Isthmus - - - - Grund

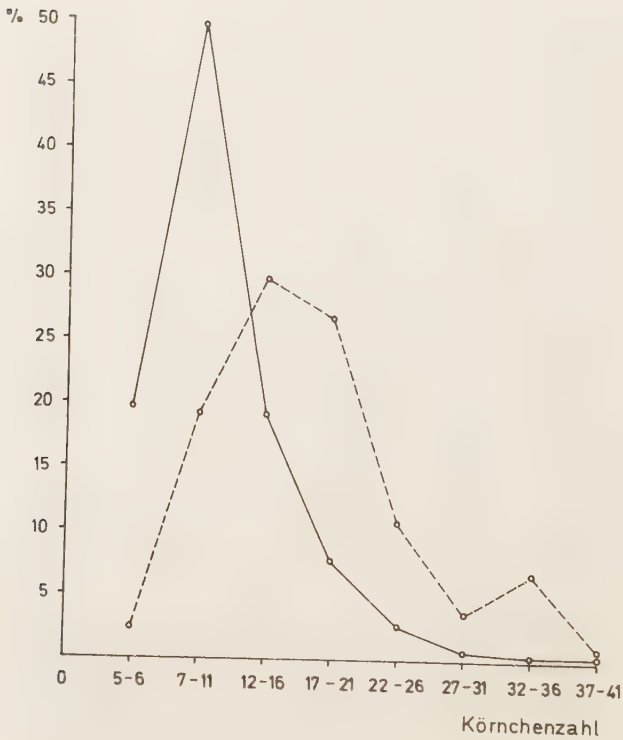


Abb. 11 Prozentuale Häufigkeitsverteilung der markierten Belegzellen bezogen auf die Zahl der Silberkörnchen (in Klassen) bei 2 Ratten 28 Tage nach der letzten 3HTdR - Injektion und 24 maliger Pentagastrinstimulierung.

———— Isthmus - - - - Grund

3.3. Statistische Auswertung

Zum Vergleich der Häufigkeits - Verteilungen der Silberkornzahlen pro Belegzellkern in Isthmus und Grund wurde ein Identitätstest herangezogen. Eine Voruntersuchung (Schnelltest von David, SACHS 1969) ergab, daß nicht in allen Fällen Normalverteilung vorlag. Die Verteilung der Zellen in Isthmus und Base konnte daher nicht über den üblichen t - Test miteinander verglichen werden, da dieser Normalität voraussetzt.

Deshalb wurde der U - Test von Wilcoxon aus der Gruppe der verteilungsunabhängigen Verfahren ausgewählt, da dieser zu den schärfsten nichtparametrischen Tests zählt und den hier vorliegenden Fall mehrerer Stichproben berücksichtigt.

Verfahrensbeschreibung

Die Stichprobenmengen von Isthmus bzw. Grund, die aus jeweils zwei vergleichbaren Versuchen stammten, wurden zu einer einzigen Stichprobenmenge " Isthmus " bzw. " Grund " vereinigt und in eine gemeinsame, bezüglich Körnchenzahl aufsteigende Reihenfolge gebracht. Anschließend wurde die gemittelte Rangsumme (SACHS 1969, S. 298) von Isthmus (= R_1) und Grund (= R_2) berechnet. Mit den Abkürzungen m: Zahl der Stichproben in Isthmus und n: Zahl der Stichproben im Grund ergaben sich U_1 und U_2 folgendermaßen:

$$U_1 = mn + \frac{m(m+1)}{2} - R_1$$

$$U_2 = mn + \frac{n(n+1)}{2} - R_2$$

Mit $U = \min (U_1, U_2)$ und den Abkürzungen : $S = m + n$,
 t : Zahl der Gruppen mit gleichen Stichprobenwerten,
 t_r : Umfang der r - ten Gruppe gleicher Stichprobenwerte,
 wurde dann z folgendermaßen berechnet:

$$z = \frac{\left| U - \frac{m \cdot n}{2} \right|}{\sqrt{\left[\frac{m \cdot n}{s \cdot (s - 1)} \right] \times \left[\frac{s^3 - s}{12} - \sum \frac{t_r^3 - t_r}{12} \right]}}$$

z stellt den absoluten Wert einer normalverteilten Größe dar. Die Hypothese H_0 : Identität von Verteilung der markierten Belegzellen in Isthmus und im Grund der Magendrüsen wurde bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p = 0,0001$ % verworfen, wenn z außerhalb des zweiseitigen 99,9999 % - igen Vertrauensbereichs lag. Der kritische Wert z ist bei $p = 0,0001$ im zweiseitigen Test 4,4172 (SACHS 1969, S. 216).

Wie Tab. 4 zeigt, liegen alle Versuchsgruppen außerhalb dieses kritischen Wertes z .

Die Verteilung der markierten Belegzellen in Isthmus und Grund unterscheidet sich also signifikant voneinander.

Tabelle 4

Zusammenstellung der speziellen Werte U_1 , U_2 und z
für die einzelnen Versuchspaare.

	U_1	U_2	z
R 18 u. R 19	27793	14127	4,7001719
R 20	8764,5	3319,5	4,5528443
R 22 u. R 23	26883	10791	5,7965755
R 26 u. R 27	49222,5	18977,5	7,7451273
R 28 u. R 29	30583,5	12002,5	6,9506977
R 30 u. R 31	69756,5	16544,5	11,12984

4. Diskussion

Unter extremen Umständen, z. B. bei Wundregeneration, können sich Belegzellen mitotisch teilen. Dies hat GOKEL (1976) an Magenresektionspräparaten feststellen können. Für amitotische Teilungen in großer Zahl ergeben sich keine Hinweise (DITLMANN 1977). Eine direkte Regenerations- und Teilungsfähigkeit unter normalen Bedingungen wird in den meisten autoradiographischen Untersuchungen bestritten (CREAMER 1961, LIPKIN 1963, MAC DONALD 1964, RAGINS 1968 und WILLEMS 1972, 1975). Aufgabe dieses Versuchs war es, festzustellen, ob auch unter dem Stimulus einer submaximalen Pentagastringabe die Belegzellen weiterhin teilungsunfähig bleiben, oder ob es vielleicht zu einer Änderung der Regenerationsart kommt. Die Frage, ob sich Belegzellen unter Pentagastrinstimulierung generell mitotisch teilen, oder sich aus anderen Zellen differenzieren, kann durch die Ergebnisse dieses Versuchs klar beantwortet werden.

Bei den Tieren, die 40 Minuten nach der letzten ^3H - Thymidininjektion im Rahmen einer Intervallmarkierung (8 Injektionen alle 6 Stunden) getötet wurden, fand sich in den Proliferationszonen der Fundusschleimhaut bei den Belegzellen ein Markierungsindex von weniger als 1 %. Im Grund der Magendrösen fehlten markierte Belegzellen völlig. Hier gab es allerdings andere markierte Zellen, die nicht eindeutig identifiziert werden konnten. Auch im Isthmus war es oft sehr schwer, zwischen den sehr zahlreichen, markierten undifferenzierten Zellen und den markierten Belegzellen zu unterscheiden. Diese Differenzierungsschwierigkeiten dürften auch die z. T. widersprüchlichen Beobachtungen in der Literatur erklären. Während MYHRE (1960) bei Ratten und WILLEMS (1972, 1975) bei Mäusen 45 Minu-

ten nach ^3H - Thymidin markierte Belegzellen fanden, konnten HUNT und HUNT (1962) bei Ratten und RAGINS (1968) bei Mäusen keine markierten Belegzellen erkennen. HUNT und HUNT (1962) zeigten, daß bei Ratten 48 Stunden nach ^3H - Thymidin von den markierten Zellen 1 % Belegzellen sind. Da in unserem Versuch die Tiere 43 Stunden nach der ersten ^3H - Thymidininjektion getötet wurden, besteht einerseits die Möglichkeit, daß sich die wenigen, markierten Belegzellen in dieser Zeit differenziert haben. Es ist andererseits aber auch nicht auszuschließen, daß sich einige Belegzellen während der Verfügbarkeit des ^3H - Thymidin in der S - Phase befanden.

Anders als nach 40 Minuten fanden wir nach 7 Tagen einen Markierungsindex von 6,74 %. Es stellte sich also heraus, daß die Zahl der markierten Belegzellen deutlich anstieg, wenn man die Tiere einige Tage überleben ließ. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von HUNT und HUNT (1962), die als erste dieses Phänomen beobachteten, von RAGINS (1968) und von WILLEMS (1972). Sie alle fanden ebenfalls einen Anstieg der markierten Belegzellen etwa 5 - 6 Tage nach ^3H - Thymidingabe. Da dieses nur etwa 45 Minuten nach der Injektion verfügbar ist, müssen sich die meisten Belegzellen aus anderen Zellen in Isthmus oder Hals differenziert haben. Dies spricht eindeutig dafür, daß sich während der Verfügbarkeitszeit des ^3H - Thymidin die allermeisten Belegzellen nicht in der S - Phase befunden haben.

Ein weiteres Argument gegen regelmäßige mitotische Teilungen ist die Tatsache, daß keine einzige Belegzellmitose gesehen werden konnte. Belegzellmitosen sind unter normalen Bedingungen von HARMS (1910) beobachtet worden. RAGINS (1968) berichtet, er habe unter 250000 untersuchten Belegzellen keine einzige Mitose gesehen.

Da dies wegen der langen Lebensdauer der Belegzellen kein sicherer Beweis gegen mitotische Teilungen ist, haben KREMPIEN (1971), RAGINS (1968) und WILLEMS (1972) mit Körnchenzählungen bei Mäusen versucht, diesem Problem nachzugehen. Sie gingen dabei von der Überlegung aus, daß es im Laufe der Zeit über den Belegzellen zu einer Verdünnung der Körnchenzahl kommen müsse, wenn diese sich selbst teilen würden. Dies würde sich an den Kurven in einer Linksverschiebung zu niedrigeren Körnchenzahlen ausdrücken. Tatsächlich kam es bei allen drei Untersuchern nicht zu einer solchen Linksverschiebung, was diese als Beweis gegen eine Teilung der Belegzellen ansahen. Allerdings hat diese Methode einige technische Unzulänglichkeiten. Bei KREMPIEN (1971) haben 70 % der markierten Belegzellen nur 4 - 11 Körnchen, eine Linksverschiebung könnte sich also kaum bemerkbar machen. Auch wäre eine Linksverschiebung kein glatter Beweis für eine Teilung. Wenn sich nämlich die Vorläuferzellen mehrmals teilen, müßten die Belegzellen zu späteren Zeitpunkten auch niedrigere Körnchenzahlen aufweisen. Dennoch spricht die Summe unserer und anderer Befunde klar dafür, daß sich die Masse der Belegzellen unter normalen Umständen aus undifferenzierten Zellen bildet, die sich im Isthmus der Fundusdrüsen befinden. Wie GOKEL (1976) gezeigt hat, scheinen die Belegzellen aber trotz ihrer hohen Differenzierung die Fähigkeit behalten zu haben, sich zumindest in bestimmten Ausnahmesituationen mitotisch zu vermehren.

Im gesamten Magen - Darm - Trakt unterliegt das Oberflächenepithel der Schleimhaut einem ständigen Wechsel zwischen Erneuerung und Abschilferung ins freie Lumen. Die in den Regenerationszonen in den Foveolae (Isthmus) gebildeten Oberflächenepithelzellen wandern in 1 - 3 Tagen zur Oberfläche und werden dort abgestoßen. Dieser Mechanismus der Zellerneuerung ist charakteristisch für ein Wechselgewebe. Im Gegensatz dazu verhalten sich die

spezifischen Zellen des Magens mit einem wesentlich geringeren Zellumsatz ähnlich wie die Zellen stabiler Gewebe (Pankreas, Leber, Niere). Eine besondere Stellung unter den spezialisierten Zellen scheinen aber die Belegzellen einzunehmen. Ihre Lokalisation in der Fundusschleimhaut ist nicht auf einzelne Zonen begrenzt, sondern sie sind sowohl im Isthmus, als auch im Hals - und Drüsengrund anzutreffen. Wenn man von einer überwiegenden Erneuerung der Belegzellen aus Vorläuferzellen in Isthmus oder Hals ausgeht, stellt sich vor allem die Frage, wie ihre Erneuerung in der Tiefe der Drüsen abläuft.

In unserem Versuch fanden wir 40 Minuten nach der letzten $^3\text{HTdR}$ - Injektion 0 %, nach 7 Tagen 2,4 % und nach 28 Tagen 13,2 % der markierten Belegzellen im Grund. Wir konnten damit die Beobachtungen von WILLEMS (1971, 1972, 1975) bestätigen, der allerdings erst 3 Wochen nach ^3H - Thymidin markierte Belegzellen im Hauptstück nachwies. Er schloß daraus, daß die Belegzellen nach ihrer Differenzierung aus Vorläuferzellen im Isthmus im Laufe der Zeit eine Wanderung in Richtung Drüsengrund antreten würden. Schon HARMS (1940) hat von einer solchen Wanderung gesprochen. Er zog diesen Schluß, da er im Hals der Drüsenschläuche Belegzellmitosen fand und die ersten Zeichen des Zerfalls der Belegzellen immer in den tiefen Teilen der Drüse feststellte. Nach LAWN (1960) hatten in elektronenmikroskopischen Untersuchungen die Belegzellen im Hals einen geringeren Differenzierungsgrad als die tiefer gelegenen im Grund. Er schloß daraus ebenfalls auf eine Abwärtsbewegung der Belegzellen. Während ROSA (1963) die Befunde von LAWN bestätigen konnte, glaubte ITO (1961), daß dessen Beobachtungen artifizieller Natur seien. RAGINS (1968) wandte sich ebenfalls gegen eine Wanderung, da er bei Mäusen markierte Belegzellen auch schon nach kurzen Zeiten nach ^3H - Thymidin in allen drei Zonen der

Schleimhaut fand.

Um dem Problem einer eventuellen Wanderung der Belegzellen weiter nachzugehen, haben wir Silberkornzählungen durchgeführt. Wenn man davon ausgeht, daß die Vorläufer der Belegzellen mehrere, unterschiedlich rasche Teilungsschritte im Rahmen einer inäqualen Zellteilung unternehmen, dann müßte es bei einer Wanderung der Belegzellen in den Drüsengrund im Isthmus zu einer Verdünnung, im Hauptstück dagegen zum Auftreten höherer Körnchenzahlen kommen, da die zuerst gebildeten Belegzellen mit der größten radioaktiven Aktivität gleich abwandern würden (Abb. 12).

Tatsächlich haben wir gefunden, daß im Isthmus die Belegzellen mit niedrigen Körnchenzahlen in einer weit höheren Anzahl vorliegen als im Hauptstück. Umgekehrt fanden wir im Hauptstück wesentlich mehr hochmarkierte Belegzellen als im Isthmus. Das bedeutet, daß sich deren Vorläuferzellen nicht so oft geteilt haben können wie die der Isthmus - Belegzellen. Diese Befunde können also durchaus ein Argument für eine Abwärtswanderung der Belegzellen sein.

Im Gegensatz zum Wechselgewebe sind jedoch Zellwanderungen in stabilen Geweben umstritten, z. B. in der Leber (MESSIER und LEBLOND 1960). Über die Art einer Belegzellwanderung gegen die allgemeine Aufwärtsbewegung der Oberflächenzellen kann man sich bei ihrer Größe und der langen Wegstrecke nur schwer Vorstellungen machen. Es müßte angenommen werden, daß sie sozusagen amöboid zwischen den Neben - und Hauptzellen hindurchwandern.

Eine weitere Möglichkeit, die hohen Körnchenzahlen im Hauptstück zu erklären, wäre die Annahme, daß sich Vorläufer der Belegzellen auch in tiefen Regionen der Drüsen befinden. Das würde bedeuten, daß es in den 3 Zonen

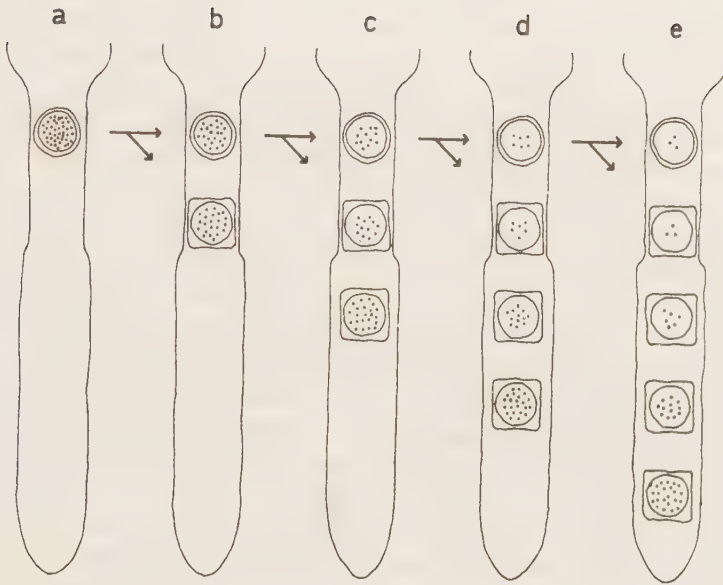


Abb. 12 Hypothese der Differenzierung der Belegzellen aus Vorläuferzellen im Isthmus und anschließende Wanderung in tiefere Drüsenabschnitte. Im Laufe der Zeit erscheinen markierte Belegzellen im Drüsengrund. Diese sind im Durchschnitt höher markiert als die im Isthmus.

an Ort und Stelle zu einer Differenzierung aus den Vorläuferzellen kommen würde (Abb. 13). Wie auch andere Untersucher fanden wir im Drüsengrund von Tieren, die kurz nach der letzten ^3H - Thymidininjektion getötet wurden, markierte Zellen, die wir nicht differenzieren konnten. TOWNSEND (1961) fand in Untersuchungen während der Regeneration tief in der Drüse an Nebenzellen erinnernde markierte Zellen, von denen er glaubte, sie würden sich direkt in Hauptzellen oder Belegzellen umwandeln. MAC DONALD (1964) glaubte ebenfalls, markierte Nebenzellen im Grund gesehen zu haben, wie auch MYHRE (1960) radioaktive Reaktionen über Zellen fand, die er für undifferenzierte Zellen hielt, die die Fähigkeit zur Umwandlung in Haupt - und Nebenzellen hätten. RAGINS (1968) sprach einfach von " anderen Zellen ".

Um die Befunde zu erklären, müßte man annehmen, daß die Tochterzellgeneration der Vorläuferzellen im Grund eine viel längere G 1 - Phase hätte als im oberen Teil der Drüse. Dies würde bedeuten, daß die Differenzierungszeiten in der Drüse von oben nach unten zunehmen müßten. Die Folge wäre eine spätere Differenzierung im Drüsengrund. Dies würde dann erklären, warum markierte Belegzellen erst nach einigen Tagen im Grund auftauchen, und warum hier die Körnchenzahlen höher sind. Als Ursache könnte man vielleicht einen vermehrten Verlust von Belegzellen in den oberen Teilen der Drüsen annehmen, was aber nicht exakt zu belegen ist. Man findet keine Belegzellen im freien Lumen. Die größten Schwierigkeiten, die strittigen Fragen zu klären, macht jedoch nach wie vor die Identifizierung der markierten " anderen " Zellen im Grund. Dies zeigen auch die oben erwähnten Beispiele aus der Literatur. Lichtmikroskopisch kann mit autoradiographischen Präparaten bei der angewandten Färbung und der Unmöglichkeit einer genauen Differenzierung

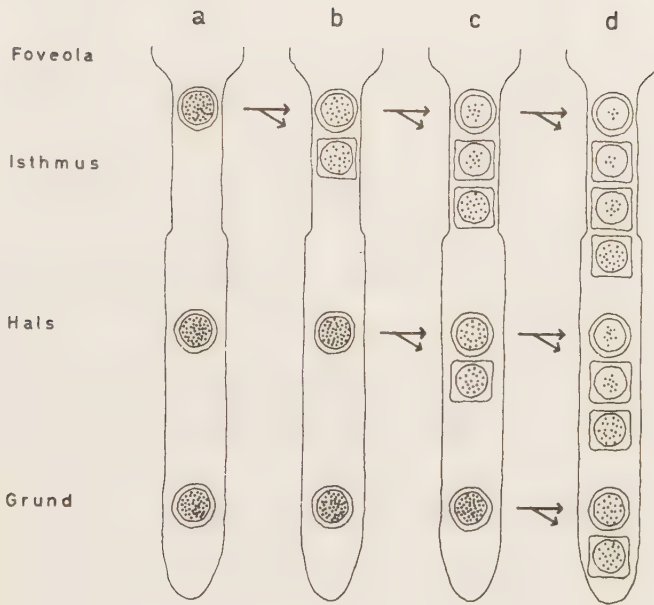


Abb. 13 Hypothese der Belegzelldifferenzierung in den verschiedenen Drüsenabschnitten aus ortsständigen Vorläuferzellen bei rascherer Differenzierung in den oberen und langsamerer Differenzierung in den tieferen Drüsenabschnitten. Dadurch im Drüsengrund anfangs keine, zu späteren Zeiten im Durchschnitt stärker markierte Belegzellen als im Isthmus.

überhaupt keine Entscheidung getroffen werden, um welche Zellen es sich dabei handelt. Solange man nicht auch im Hauptstück diese markierten Zellen identifizieren kann, ist die eben dargestellte Möglichkeit der Erneuerung der Belegzellen nicht zu beweisen.

Die Frage muß also noch offenbleiben, wie die Belegzellen sich in den tiefen Teilen der Drüse erneuern. Zwar sprechen unsere und einige Ergebnisse anderer Untersucher für eine Wanderung, doch ganz befriedigend ist diese Erklärung in Anbetracht der obengenannten Einwände nicht. Festzustehen scheint hingegen, daß sich die Masse der Belegzellen aus undifferenzierten Zellen in Isthmus und Hals regeneriert. Dennoch sind die Belegzellen nicht unter allen Umständen irreversibel postmitotische Zellen, wie durch einige Beobachtungen belegt wird. Die in diesem Versuch angewandte submaximale Pentagastrinstimulierung führt zwar zu der bekannten Belegzellhyperplasie, ein Umschlag des normalen Regenerationsverhaltens tritt hierdurch jedoch nicht ein.

2. Ausgangsfrage

Zur Untersuchung des Modus der Belegzellregeneration wurden 30 erwachsene WISTAR - Ratten einer submaximalen Pentagastrinstimulierung unterzogen. Hierdurch konnte die normalerweise sehr langsame Belegzellregeneration erheblich gesteigert werden. Um die Zellen während der Regenerations- und Differenzierungsphase autoradiographisch verfolgen zu können, wurde eine Intervallmarkierung mit ^3H - Thymidin durchgeführt.

40 Minuten nach Beendigung der Intervallmarkierung fanden sich nur wenige markierte Belegzellen, und zwar ausschließlich im Isthmus- und Halsbereich. Ihre Zahl stieg 7 Tage nach Beendigung der Markierung stark an, zu diesem Zeitpunkt fanden sich auch 2 % aller markierten Belegzellen im Drüsengrund. Nach 28 Tagen sah man 15 % der markierten Belegzellen im Drüsengrund.

Die Körnchenzahl der markierten Belegzellen im Drüsengrund war signifikant höher als die der Belegzellen im Isthmus- und Halsbereich. Belegzellmitosen wurden nicht gefunden.

Aus den Befunden geht hervor, daß die Belegzellen sich aus undifferenzierten Vorläuferzellen differenzieren. Die Ergebnisse stehen auch im Einklang mit der Annahme, daß die Belegzellregeneration hauptsächlich im Isthmus- und Halsbereich erfolgt und anschließend eine Wanderung der Belegzellen in den Drüsengrund stattfindet. Es ist jedoch ebenfalls möglich, daß sich die auf alle Drüsenabschnitte verteilten Belegzellen an Ort und Stelle aus Vorläuferzellen differenzieren. In diesem Fall müßte allerdings eine wesentlich längere G-1-Phase der Vorläuferzellen in den tiefen Drüsenabschnitten unterstellt werden.

6. Literaturverzeichnis

- BENSLEY R. R. : The structure of the mammalian gastric glands.
Quart. J. micr. Sci. 41, 361 (1898)
- BENSLEY R. R. : The gastric glands.
In special cytology. E. V. Cowdry,
Ed. Paul B. Hoeber, Inc. New York.
Sect. VII, 1 198 (1932)
- BERTALANFFY F. D. : Mitotic rates and renewal times of
the digestive tract epithelia in the
rat.
Acta anat. 40, 130 (1960)
- BIZZOZERO G. : Über die Regeneration der Elemente der
schlauchförmigen Drüsen und des Epithels
des Magendarmkanals.
Anat. Anz. 3, 781 (1888)
- BIZZOZERO G. : Über die schlauchförmigen Drüsen des
Magen - Darm - Kanals und die Beziehungen ihres Epithels zu dem Oberflächenepithel der Schleimhaut.
Arch. f. mikr. Anat. 42, 82 (1893)
- CORPRON R. E. : The ultrastructure of the gastric mucosa in normal and hypophysectomized rats.
Amer. J. Anat. 118, 53 (1966)
- CREAMER B., SHORTER R. G. u. BAMFORTH J. : The turnover and shedding of epithelial cells.
Gut 2, 110 (1961)

- CREAN P. C., MARSHALL M. W. u. RUMSEY R. D. : Parietal cell hyperplasia induced by the administration of pentagastrin (ICI 50, 123) to rats.
Gastroent. 57, 147 (1969)
- DITLMANN M. : Cytophotometrische Bestimmung des DNS-Gehaltes von Belegzellen des Rattenmagens.
Inaugural - Dissertation (1977)
- EDER M. : Zellerneuerung im Magen - Darm - Trakt.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 50, 75 (1966)
- FREXIMOS J., CARBALLIDO M., LOUIS A. u. RIBET A. : Effects of pentagastrin stimulation on human parietal cells.
Amer. J. digest. Dis. 16, 1065 (1971)
- GOKEL F. M. : Persönliche Mitteilung (1976)
Pathologisches Institut der Universität München
- HARMS W. : Über den Ersatz der Haupt - und Belegzellen im Magen der Maus.
Anat. Hefte 41, 391 (1910)
- HARVEY B. C. H. : A study of the structure of the gastric glands of the dog and of the changes with they undergo after gastroenterostomy and occlusion of the pylorus.
Amer. J. Anat. 6, 207 (1907)
- HÜBNER G., KLEIN H. J., EDER M. : Feinstrukturelle Untersuchungen an der Fundusschleimhaut des Rattenmagens nach Stimulierung mit Pentagastrin und Betazol.
Verh. Dtsch. Ges. Path. 53, 247 (1969)

- HÜBNER G., KLEIN H. J. u. EDER M. : The gastric glands of the rat after stimulation with pentagastrin, histalog, and in acute stress. Acta Hepato - Gastroenterol. 19, 388 (1972)
- HUNT T. E. : Mitotic activity in the gastric mucosa of the rat after fasting and refeeding. Anat. Rec. 127, 539 (1957)
- HUNT T. E. : Regeneration of the gastric mucosa in the rat. Anat. Rec. 131, 193 (1958)
- HUNT T. E. u. HUNT E. A. : Thymidine - H^3 radioautographs of the gastric mucosa of the rat after stimulation with compound 48/80. Anat. Rec. 139, 240 (1961)
- HUNT T. E. u. HUNT E. A. : Radioautographic study of proliferation in the stomach of the rat using thymidine - H^3 and compound 48/80. Anat. Rec. 142, 505 (1962)
- ITO S. : The agranular endoplasmatic reticulum of the gastric parietal cell. Anat. Rec. 139, 240 (1961)
- JOHNSON L. R., AURES D. u. YUEN L. : Pentagastrin induced stimulation of the in vitro incorporation of ^{14}C - leucine into protein of the gastrointestinal tract. Amer. J. Physiol. 217, 251 (1969)

- KLEIN H. J., GHEORGHIU TH., FROTZ H. u. EDER M. :
Untersuchung der Pentagastrinwirkung
auf die Sekretion des Rattenmagens.
Z. ges. exp. Med. 148, 124 (1968)
- KLEIN H. J., JIRMAN W. V. u. EDER M. : Belegzell-
hyperplasie bei Ratten nach Pentagastrin-
Stimulierung.
Z. Gastroent. 3, 171 (1969)
- KREMPIEN B., RITZ E., SCHRECKER K. u. WANKE M. : Magen-
schleimhautveränderungen bei experimen-
teller Urämie.
Z. Gastroent. 9, 639 (1971)
- LAWN A. M. : Observations on the fine structure of
the gastric parietal cell of the rat.
J. Biophysic. and Biochem. Cytol, Vol 7,
No 1, 161 (1960)
- LAWSON H. H. : The origin of chief and parietal cells
in regenerating gastric mucosa.
Brit. J. Surg. 57, 139 (1970)
- LEBLOND C. P. u. WALKER B. E. : Renewal of cell popula-
tions.
Physiol. Rev. 36, 255 (1956)
- LEBLOND C. P., MESSIER B. u. KOPRIVA B. : Thymidine - H³
as a tool for the investigation of the
renewal of all populations.
Lab. Invest. 8/1, 296 (1959)
- LIIVAG J. : Mitotic activity of gastric mucosa.
Acta path. Microbiol. scand. 72, 43
(1968)

- LIPKIN M., SHERLOCK P. u. BELL B. : Cell proliferation kinetics in the gastrointestinal tract of man. II.: Cell renewal in stomach, ileum, colon and rectum.
Gastroent. 45, 721 (1963)
- MAC DONALD W. C., TRIER J. S. u. EVERETT N. B. : Cell proliferation and migration in the stomach, duodenum and rectum of man: radioautographic studies.
Gastroent. 46, 405 (1964)
- MARKS J. W. u. DRYSDALE K. M. : A modification of Zimmermann's method for differential staining of gastric mucosa.
Stani. Technol. 32, 48 (1957)
- MATSUYAMA H. u. SUZUKI H. : Differentiation of immature mucous cells into parietal, argyrophil, and chief cells in stomach grafts.
Science 169, 385 (1970)
- MESSIER B. : Radioautographic evidence for the renewal of the mucous cells in the gastric mucosa of the rat.
Anat. Rec. 136, 242 (1960)
- MESSIER B. u. LEBLOND C. P. : Cell proliferation and migration as revealed by radioautography after injection of thymidine - H^3 into male rats and mice.
Amer. J. Anat. 106, 247 (1960)
- MILLER L. R., JACOBSEN E. D. u. JOHNSON L. R. : Effect of pentagastrin on gastric mucosal cells grown in tissue culture.
Gastroent. 64, 254 (1973)

- NIJH E. : Regeneration of the fundic mucosa in rats.
Arch. Path. 70, 476 (1960)
- NAUMANN U. : Persönliche Mitteilung (1977)
- OEHLERT W. : Zellmauserung, reparatorische und pathologische Regeneration.
Hippokrates 41, 307 (1970)
- OEHLERT W. u. BÜCHNER T. H. : Mechanismus und zeitlicher Ablauf der physiologischen Regeneration im mehrschichtigen Plattenepithel und in der Schleimhaut des Magen - Darm - Traktes der weißen Maus.
Beitr. Path. Anat. 125, 374 (1961)
- PLENK H. : Der Magen. In Handbuch der mikrosk. Anatomie des Menschen, herausgeg. von W. v. Möllendorf.
Band V, Teil 2, Springer Berlin (1932)
- PILGRIM C. u. MAURER W. : Autoradiographische Untersuchung über die Konstanz der DNS - Verdoppelungsdauer bei Zellarten von Maus und Ratte durch Doppelmarkierung mit H^3 - und C^{14} - Thymidin.
Exp. Cell Res. 37, 183 (1965)
- QUASTLER H. u. SHERMAN F. G. : Cell population kinetics in the intestinal epithelium of the mouse.
Exper. Cell Res. 17, 420 (1959)
- RAGINS H., WINCZE F., LIU S. H. u. DITTBRENNER M. :
The origin and survival of gastric parietal cells in the mouse.
Anat. Rec. 162, 99 (1968)

- ROSA F. : Ultrastructure of the parietal cell in the human gastric mucosa in the resting state and after stimulation with histalog.
Gastroent. 45, 354 (1963)
- RUBIN W., ROSS L. L., SLEISINGER M. H. u. JEFFRIES G. H. :
The normal human gastric epithelia.
Lab. Invest. 19, 598 (1968)
- SACHS L. : Statistische Auswertungsmethoden
Springer Berlin (1969)
- SCHULTZE B. : Die Orthologie und Pathologie des Nucleinsäure - und Eiweißstoffwechsels der Zelle im Autoradiogramm.
Handbuch der Allg. Pathologie II/5
(1968)
- STANLEY M. D., COALSEN R. E., GROSSMAN M. I. u. JOHNSON L. R. :
Influence of secretin and pentagastrin on acid secretion and parietal cell number in rats.
Gastroent. 63, 264 (1972)
- STEVENS C. E. u. LEBLOND C. P. : Renewal of the mucous cells in the gastric mucosa of the rat.
Anat. Rec. 115, 231 (1953)
- TEIR H., SCHAUMAN A. u. SUNDELL B. : Mitotic ratio and Colchicine sensivity of the stomach epithelium of the white rat.
Acta anat. 16, 233 (1952)

- TEIR H. u. RAS-NEN T. : A study of mitotic rate in renewal zones of nondiseased portions of gastric mucosa in cases of peptic ulcer and gastric cancer, with observations on differentiation and so - called " intestinalisation " of gastric mucosa. J. nat. Cancer - Inst. 27, 949 (1961)
- TOWNSEND S. F. : Parenchymal cell origins in regenerating gastric mucosa. Anat. Rec. 139, 280 (1961)
- TRUDINGER B. J. u. WILHELM D. L. : Regeneration of gastric mucosa at the squamo - columnar junction in the rat. J. of Pathol. 97, 105 (1969)
- WEGENER K., BÖRNER M., KREMPFEN B., WANKE M. u. RITZ E. : Urämie und Proliferation der Magenschleimhaut. Virchows Arch. Abt. B Zellpath. 8, 186 (1971)
- WILLEMS G. : Cell renewal in the gastric mucosa. Digestion 6, 46 (1972)
- WILLEMS G., VANSTEENKISTE Y. u. SMETS PH. : Effects of food ingestion on the cell proliferation kinetics in the canine fundic mucosa. Gastroenterol. 61, 323 (1971)
- WILLEMS G., VANSTEENKISTE Y. u. VERBEUSTEL S. : Autoradiographic study of cell renewal in fundic mucosa of fasting dogs. Acta. anat. 80, 23 (1971)

- WILLEMS G., VANSTEENKISTE Y. u. SMETS PH. : Effects of ethanol on the cell proliferation kinetics in the fundic mucosa of dogs.
Amer. J. digest. Dis. 16, 1057 (1971)
- WILLEMS G., VANSTEENKISTE Y. u. LIMBOSCH I. M. : Stimulating effects of gastrin on cell proliferation kinetics in canine fundic mucosa.
Gastroenterol. 62, 583 (1972)
- WILLEMS G., GALAND P., VANSTEENKISTE Y. u. ZEITOUN P. : Cell population kinetics of zymogen and parietal cells in the stomach of mice.
Z. Zellforsch. 134, 505 (1972)
- WILLEMS G. u. LEHY T. : Radioautographic and quantitative studies on parietal and peptic cell kinetics in the mouse.
Gastroenterol. 69, 416 (1975)

Herrn Professor Dr. med. Baldur Wiebecke

danke ich sehr herzlich für die zahlreichen wertvollen
Diskussionen, die immer hilfreiche Kritik und die stets
freundliche Unterstützung.

Lebenslauf

Am 4. 4. 1949 wurde ich, Michael Hellmuth Buchhorn, als Sohn des Schulrates Hellmuth Buchhorn und seiner Ehefrau Katharina, geb. Lagally, in Manholding, Kreis Traunstein geboren.

Im Herbst 1955 trat ich in die Evang. Volksschule Traunstein ein. Vom Herbst 1959 an besuchte ich den Humanistischen Zweig des Chiemgau - Gymnasiums Traunstein, wo ich auch 1969 das Abitur ablegte.

Nach Ableistung des Wehrdienstes begann ich im Sommersemester 1971 an der Ludwig - Maximilians - Universität München das Medizinstudium. Hier legte ich 1972 das Vorphysikum, 1974 das Physikum ab. Im Sommersemester 1975 begann ich mit der Arbeit an meiner Dissertation. Mein Studium konnte ich am 21. Juni 1977 mit dem Staatsexamen beenden.

Seit dem 15. Juli 1977 bin ich mit der Lehrerin Monika Buchhorn, geb. Ranker, verheiratet.

Als Medizinalassistent arbeitete ich vom 1. September bis zum 31. Dezember 1977 in der 1. Medizinischen Abteilung des Städtischen Krankenhauses München - Neuperlach. Im selben Krankenhaus bin ich zur Zeit Medizinalassistent in der 1. Chirurgischen Abteilung.

